

J. Clin. Chem. Clin. Biochem.
Vol. 17, 1979, pp. 353–357

Die Aktivität des Peroxid-metabolisierenden Systems in Human-Leber

Von K.-H. Konz¹⁾

Physiologisch-Chemisches Institut (Dir.: Prof. Dr. Dr. G. Weitzel) der Universität Tübingen

(Eingegangen am 18. Dezember 1978/2. Februar 1979)

Zusammenfassung: Die Aktivitäten verschiedener peroxid-metabolisierender Enzyme wurden in Homogenaten von Human-Leberexzisionen bestimmt. Die spezifischen Aktivitäten (\pm Standardabweichung) der selenhaltigen bzw. der nicht-selenabhängigen Glutathionperoxidase betrugen $41,1 \pm 23,7$ bzw. $30,5 \pm 14,0$ mU/mg Protein. Katalase und Superoxiddismutase lagen in einem Gewebsgehalt von $4,72 \pm 0,58$ bzw. $1,87 \pm 0,68$ μ g/mg Protein vor. Das freie lösliche Gesamtglutathion betrug $12,9 \pm 7,4$ nmol/mg Protein. Der Lipidperoxidgehalt wurde in Form von in-vitro gebildetem Malondialdehyd zu $0,32 \pm 0,14$ nmol/mg Protein bestimmt. Diese Enzym- bzw. Substratgehalte liegen beim Menschen erheblich tiefer als bei Ratte und Maus. Glutathiongehalt und Selenperoxidase korrelieren positiv mit $r = 0,48 \pm 0,31$. Selen-Peroxidase und Nicht-Selen-Peroxidase korrelieren negativ mit $r = -0,71 \pm 0,18$; Superoxiddismutase und Lipidperoxidgehalt korrelieren ebenfalls negativ mit $r = -0,47 \pm 0,31$. Die vorliegenden Befunde unterstreichen die zentrale Bedeutung dieser protektiven Systeme für die Integrität der Humanleber.

The activity of the peroxide-metabolizing system in human liver

Summary: The activities of various peroxide-metabolizing enzymes were determined in homogenates of human liver excisions. The specific activity of selenium-dependent glutathione peroxidase was 41.1 ± 23.7 (S.D.) mU/mg protein; non-selenium glutathione peroxidase showed an activity of 30.5 ± 14.0 mU/mg protein. The catalase and superoxide dismutase concentrations were 4.72 ± 0.58 and 1.87 ± 0.68 μ g/mg protein, respectively. Total glutathione amounted to 12.9 ± 7.4 nmol/mg. Malondialdehyde formation, used as the basis for the determination of lipid hydroperoxides, was 0.32 ± 0.14 nmol/mg. The data indicate much lower enzyme and substrate levels compared to rats and mice. A positive correlation of $r = 0.48 \pm 0.31$ was found between the glutathione level and selenium-dependent peroxidase. Selenium-dependent and non-selenium-glutathione peroxidase correlate negatively ($r = -0.71 \pm 0.18$); superoxide dismutase concentration and lipid-hydroperoxides are also related by a negative correlation coefficient of $r = -0.47 \pm 0.31$. These data stress the major hepatoprotective role of these systems in human liver.

Einführung

Die toxische und arzneimittelbedingte Leberschädigung ist eng mit dem Glutathion- und Peroxid-Stoffwechsel des Hepatocyten verknüpft. Das Selenenzym Glutathionperoxidase²⁾ reduziert mittels Glutathion (GSH) eine Vielzahl von Peroxiden, von H_2O_2 über organische Hydroperoxide inklusive peroxidierten Fettsäuren (1, 2). Es kann damit den essentiellen, aber empfindlichen,

membrangebundenen, vielfach ungesättigten Fettsäuren der Leberzelle Schutz vor Peroxidation bieten, vor allem subzellulär im Cytosol und in den Mitochondrien, in denen Katalase fehlt (3). Außerdem ist das Enzym in der Lage, in einer Art Reparaturfunktion bereits gebildete Hydroperoxy-Fettsäuren zu chemisch inerten Hydroxy-Verbindungen zu reduzieren (4). Erst kürzlich wurde beschrieben, daß in der Ratten-Leber eine zweite, selen-unabhängige Glutathionperoxidase vorkommt, die exklusiv mit organischen Hydroperoxiden reagiert (5). Dieses Enzym ist identisch mit der GSH-S-Transferase B (6), die ihrerseits identisch mit Ligandin ist (7).

Entscheidend ist, daß diese beiden Systeme nur ihrer Schutzfunktion gerecht werden können, solange in ausreichender Menge reduziertes Glutathion (GSH) intra-

¹⁾ Die vorliegende Arbeit wurde als medizinische Dissertation unter Anleitung von Doz. Dr. A. Wendel angefertigt.

²⁾ Enzyme:

Glutathionperoxidase EC 1.11.1.9
Superoxiddismutase EC 1.15.1
Katalase EC 1.11.1.6
Glutathionreduktase EC 1.6.4.2

zellulär vorliegt. Einer der Wege (Phase II) der Biotransformation von hepato-toxischen Pharmaka und Schadstoffen verläuft über die Konjugation mit GSH, katalysiert durch die GSH-S-Transferasen (8, 9). Dabei kann die Fremdschubstanz direkt konjugiert werden oder sie wird zunächst durch das mikrosomale Cytochrom-P-450-abhängige System hydroxyliert, demethyliert oder dealkyliert. So wird z. B. das Analgetikum Paracetamol zunächst zu N-Hydroxy-p-hydroxyacetanilid hydroxyliert und erst dann mit GSH konjugiert. Bei akut toxischen Dosen sinkt dabei das intrahepatische GSH innerhalb von 30 Minuten auf 0,20 des Kontrollwerts ab (10). In neuester Zeit konnte belegt werden, daß das Cytochrom-P-450-System selbst eine Quelle der intrazellulären O_2^- bzw. H_2O_2 Bildung darstellt (11–13). Dies bedeutet für den GSH-Bedarf des Hepatocyten, bedingt durch Peroxid-Metabolisierung und Detoxifikation, eine Doppelbelastung.

So ist es verständlich, daß schon vor Jahren dem GSH-Gehalt der Leber am Modell der akuten Paracetamol-Intoxikation der Ratte eine wichtige Schutzfunktion zugeschrieben wurde (10), die auch für den Menschen gelten soll (14). Diese Vorstellung wurde bestätigt durch in-vivo-Versuche an der Maus, die zeigten, daß verminderter Glutathiongehalt der Leber in vivo und in vitro zu gesteigerter Lipidperoxidation nach akuter Paracetamolbelastung führt (15). Das Konzept eines antiperoxidativen Schutzpotentials von intrahepatischem GSH gewann durch neueste Befunde zusätzliches Interesse: offensichtlich führt bei Ratten akute und chronische Ethanolbelastung nicht nur in vitro (16), sondern auch in vivo zur Bildung von Lipidperoxiden (17). Zusätzlich muß in diese Überlegungen die Superoxiddismutase einbezogen werden, die in aeroben Organismen ubiquitär verbreitet ist (18) und die äußerst reaktiven Sauerstoffspezies O_2^- (19, 20) und/oder Singulett-Sauerstoff in $H_2O_2 + O_2$ (Triplett-sauerstoff) dismutiert. Da es problematisch ist, Befunde aus Tierversuchen auf den Menschen zu übertragen, schien es angezeigt, die Aktivitäten der an Peroxid-Metabolisierung und Fremdstoffeliminierung beteiligten glutathionabhängigen Enzyme sowie die Glutathionkonzentration selbst in Humanleber zu bestimmen.

Methoden

Keilförmige Leberexzisionen von 0,3–2,0 g Feuchtwicht wurden von insgesamt 20 Patienten (10 ♂, 10 ♀) im Alter von 25–85 Jahren nach N_2O/O_2 bzw. Halothan-Narkose anlässlich einer Cholecystektomie chirurgisch entnommen. Als Untersuchungsgut wurden aus einem wesentlich größeren Kollektiv nur Proben verwendet, deren histologische Untersuchung keinen pathologischen Befund erkennen ließen. Das Gewebe wurde in 50 mmol/l Morpholinopropansulfonsäure-Puffer (MOPS) pH = 7,0 transferiert und spätestens 30 Minuten nach Entnahme bei $-197^\circ C$ eingefroren. Zur biochemischen Untersuchung wurden die Proben in 5 ml 0,05 mol/l MOPS pH = 7,0 in einem Potter-Elvehjem-Homogenisator homogenisiert. Für

Enzym-Bestimmungen wurde dieses Homogenat direkt eingesetzt. Ein Aliquot von 100 μl zur Glutathionbestimmung wurde sofort mit 900 μl 30 g/l Metaphosphorsäure versetzt, 10 min auf $0^\circ C$ gehalten, und anschließend die Hauptmenge des ausgefallenen Proteins durch Zentrifugation abgetrennt. 200 μl Überstand wurden erneut mit 800 μl 30 g/l Metaphosphorsäure versetzt und analog behandelt. Kontrollexperimente mit nicht-eingefrorenen, sofort homogenisierten und aufgearbeiteten Leberproben zeigten, daß keine der untersuchten Kenngrößen durch die Lagerprozedur (maximal 10 Tage) signifikant beeinflusst wurde. Die einzelnen quantitativen Bestimmungen wurden wie folgt durchgeführt:

Glutathionperoxidase

Prinzip

Die selenhaltige GSH-Peroxidase reagiert sowohl mit H_2O_2 als auch mit organischen Hydroperoxiden. Entstandenes GSSG wird via Glutathion-Reduktase zu GSH regeneriert. Meßgröße ist der NADPH-Verbrauch (21). Vorhandene Katalase wird durch Azid vollständig gehemmt.

Bedingungen

0,05 mol/l Kaliumphosphat-Puffer pH = 7,0; 1 mmol/l GSH, 1,25 mmol/l H_2O_2 , 0,5 mmol/l EDTA, 1 U/ml GSSG-Reduktase (Boehringer), 0,25 mmol/l NADPH (Boehringer); 1 mmol/l Na₂S₂O₃; 12 min Vorinkubation mit GSH bei $37^\circ C$; Start durch H_2O_2 -Zugabe ($37^\circ C$). Definition der Einheit (vgl. l.c. (21)): 1 U = $0,246 \times A_{366}/\text{min}$. Spontane Reaktion ohne H_2O_2 (ca. 30%), Reagenzienleerwert ohne Gewebshomogenat.

Selen-freie Glutathionperoxidase

Prinzip

Dieses Enzym reagiert nur mit organischen Hydroperoxiden.

Es wurde dasselbe Textsystem verwendet wie oben beschrieben; Substrat war anstelle von H_2O_2 1,25 mmol/l *t*-Butylhydroperoxid (Peroxid-Chemie, Höllriegelkreuth). Die Aktivität errechnet sich unter den vorliegenden kinetischen Verhältnissen (22, 23) aus der Differenz des Umsatzes mit Butylhydroperoxid minus Umsatz mit H_2O_2 als Substrat.

Superoxiddismutase

Prinzip

Superoxiddismutase beschleunigt die Geschwindigkeit der aeroben Flavin-sensitvierten Photooxidation von Dianisidin (24).

Bedingungen

10 mmol/l Kaliumphosphat-Puffer pH = 7,5; 0,33 mmol/l *o*-Dianisidin (Serva), 16,7 $\mu\text{mol/l}$ Riboflavin (Serva) Gesamtvolumen 3,0 ml, Bestrahlung 4 min bei $25^\circ C$ in einer Quarzküvette durch 2 parallele 20 W Sylvania Gro-Lux-Lampen. Sofortige Messung erfolgte bei 400 nm; gekochte Proben dienten als Leerwert. Der Test wurde durch Zugabe von reiner Superoxiddismutase (Miles) intern kalibriert; damit können die Werte in μg reiner Superoxiddismutase angegeben werden.

Katalase

Prinzip

Titanylsulfat bildet mit H_2O_2 einen stabilen gelben Farbstoff (25).

Bedingungen

Volumen 2,1 ml, 0,05 mol/l MOPS pH = 7,0, 1 mmol/l EDTA, 3 mmol/l H_2O_2 . Nach 3 min Inkubation bei $25^\circ C$ wurde durch Zugabe von 1 ml Titanylsulfat/ H_2SO_4 -Reagenz (25) gestoppt. Danach wurde die Absorption bei 410 nm gemessen. Das System wurde intern durch Katalase (Boehringer) kalibriert. Die Werte sind in μg Katalase ausgedrückt.

Lipidperoxidierung

Prinzip

Malondialdehyd als Zersetzungsprodukt von mehrfach ungesättigten, peroxidierten Lipiden bildet mit Thiobarbitursäure einen roten Farbstoff (26).

Bedingungen

1 ml Leberhomogenat wurde mit 1 ml Thiobarbitursäurelösung (gesättigt bei 4 °C in 1,2 mol/l (= 200 g/l) Trichloressigsäure versetzt, auf 4 ml verdünnt und unter Verschluss 30 min bei 95 °C erhitzt. Nach Abkühlen auf Raumtemperatur und Zentrifugation wurde im Überstand die Absorption bei 532 nm gemessen. Aufgrund der unklaren Stöchiometrie der Bildung von Malondialdehyd ist eine absolute Normierung nicht möglich. Die Werte sind in nmol/mg angegeben, ermittelt aus einer Standardkurve mit authentischem Malondialdehyd (Serva). Als Leerwert diente eine proteinfreie Lösung.

Lösliches Gesamtglutathion**Prinzip**

Dithiobisnitrobenzoesäure (Ellmann's Reagenz) oxidiert reduziertes Glutathion zu GSSG unter Bildung des gelben Nitrobenzoesäure-Thiolats. In Gegenwart von NADPH und Glutathionreduktase wird das gesamte Glutathion (GSH + GSSG) erfaßt, nicht jedoch andere niedermolekulare Thiole (27).

Bedingungen

100 µl metaphosphorsaurer Überstand wurde mit 20 µl 0,4 mol/l Na₃PO₄ (= 150 g/l) neutralisiert und anschließend auf 1 ml verdünnt. Der Meßansatz enthielt in einem Volumen von 3 ml 35 mmol/l Imidazol-Puffer pH = 7,2, 1 mmol/l EDTA, 5,8 µmol/l Rinderserumalbumin (Serva), 0,6 mmol/l NADPH, 0,3 mmol/l Dithiobisnitrobenzoesäure (Serva) und Homogenat. Die Reaktion wurde bei 25 °C durch Zugabe von 1,2 kU/l Glutathion-Reduktase (Boehringer) gestartet; nach 20 min wurde die Absorption bei 412 nm in einem Shimadzu-UV-210-Doppelstrahlphotometer gegen eine Referenz ohne Homogenat gemessen. Eine Standardkurve wurde mittels GSH von Zellstoffwerk Waldhof-Aschaffenburg erstellt. Die Proteinbestimmung erfolgte nach i.c. (28).

Ergebnisse und Diskussion

In Tabelle 1 sind die spezifischen Gehalte von Glutathionperoxidase, Nicht-Selen-GSH-Peroxidase, Katalase und Superoxiddismutase zusammengefaßt. Zunächst fällt auf, daß die Katalase-Aktivität eine erstaunliche Konstanz aufweist. Die mittlere spezifische Aktivität liegt etwa halb so hoch wie in der Ratten-Leber (29). Der Glutathiongehalt der menschlichen Leber beträgt mit ca. 2,5 mmol/kg etwa 0,20 des Gehalts in der Mäuseleber (15) bzw. 0,30 des der Rattenleber (30).

Die spezifische Aktivität der selenhaltigen GSH-Peroxidase liegt beim Menschen in der Leber einen Faktor 5–6 niedriger als bei der Ratte (31) und bei der Maus (32). Die Nicht-Selen-GSH-Peroxidase liegt bei allen untersuchten Patienten in ihrer spezifischen Aktivität stets unter derjenigen der selenhaltigen GSH-Peroxidase. Mit etwa 75% der Aktivität des Selenenzyms liegt dieser Enzymgehalt allerdings prozentual erheblich höher als bei Ratte und Hamster (33), bei denen die Nicht-Selen-Peroxidase erst dann kompensatorisch ansteigt, wenn durch Selenmangel die Aktivität der Selen-Peroxidase drastisch abgesunken ist (31). Zwar dominiert bei Schaf, Schwein, Huhn und Meerschweinchen die Nicht-Selen-Peroxidase (33), jedoch wurde in diesen Spezies bisher kein Anstieg dieses Enzyms bei Selen-Mangel gezeigt. Dieselbe Studie (33) zeigt, daß Texaner in der Leber mehr Nicht-Selen- als Selen-abhängige Peroxidase aufweisen (n = 6). Ein Vergleich der absoluten Höhe der Enzymaktivitäten ist allerdings nicht nur wegen des ethnologisch andersartigen Kollektivs unmöglich, sondern auch, weil diese Daten mit einem analogen Peroxidsubstrat (Cumolhydroperoxid) und unter anderen kinetischen Verhältnissen gewonnen wurden.

Auch die Superoxiddismutase zeigt beim Menschen in der Leber eine erheblich geringere Aktivität, etwa 80% weniger als in der Nagerleber (34). Schließlich findet man in Humanleber eine klar meßbare Malondialdehydbildung als Indikator einer stattgehabten Lipidperoxidierung. Bei Ratte und Maus kann ohne Belastung kein Malondialdehyd nachgewiesen werden; vielmehr ist mit dieser Methode erst eine Peroxidierung nach massiver Intoxikation durch halogenierte Kohlenwasserstoffe (35), Ethanol (16, 17) oder Arzneimittel (15) erfaßbar.

Schlußfolgerungen

Zusammengenommen ergeben diese Befunde folgendes Bild: Die Gehalte der Peroxid-metabolisierenden Enzyme

Tab. 1. Spezifische Aktivität von Selen-Glutathionperoxidase, Nicht-Selen-Glutathionperoxidase, Superoxiddismutase, Katalase, sowie Gesamtglutathion- (GSH + GSSG) und Lipidperoxidkonzentration (Malondialdehyd) in Humanleber-Homogenat, bezogen auf mg Protein. Zusätzlich ist der Proteingehalt der Leberexzisionen angegeben.

n = Zahl der Probanden, \bar{x} = Stichprobenmittel, Min = niedrigster, Max = höchster der beobachteten Einzelwerte, s = Standardabweichung (Stichprobe).

	Selen-Glutathionperoxidase	Nicht-Selen-Glutathionperoxidase	Superoxiddismutase	Katalase	Gesamtglutathion	Malondialdehyd	Proteingehalt
Einheit	mU/mg	mU/mg	µg/mg	µg/mg	nmol/mg	nmol/mg	mg/g Feuchtgewicht
\bar{x} =	41,1	30,5	1,87	4,72	12,9	0,32	88,7
Min =	6,0	13,0	0,77	3,7	2,03	0,1	70,0
Max =	90,0	60,0	3,22	5,29	24,98	0,54	114,0
s =	23,7	14,0	0,68	0,58	7,4	0,14	14,0
n =	20	20	10	10	13	11	20

und der Glutathiongehalt liegen in Humanleber erheblich niedriger als bei Ratte oder Maus. Falls diesem System eine antiperoxidative Schutzwirkung zukommt – was in vivo noch zu beweisen ist – sollte sich dies in einem erhöhten Lipidperoxidgehalt zeigen. Dies ist der Fall. Es liegt nahe, darauf hinzuweisen, daß dies eine Erklärung dafür bietet, weshalb akute und chronische Leberinsuffizienz oft in Nagern als Modell-Organismen sehr viel schlechter zu simulieren sind als sie beim Menschen auftreten.

Die vorliegenden Daten wurden einer statistischen Analyse unterzogen. Bei keiner der untersuchten Kenngrößen konnte eine signifikante Altersabhängigkeit festgestellt werden. Aufgrund der begrenzten Anzahl von Probanden sei eine Diskussion von möglichen Zusammenhängen nur auf die Paare von Kenngrößen beschränkt, die größere Korrelationskoeffizienten als 0,4 bei einem Vertrauensniveau $p < 0,05$ aufweisen: Der Leber-GSH-Gehalt des Menschen korreliert mit der Selen-abhängigen GSH-Peroxidase-Aktivität mit einem Koeffizienten von $r = 0,48 \pm 0,19$, d. h. es besteht eine Beziehung zwischen Donorsubstrat-Konzentration und Enzymaktivität. Interessanterweise wurde an Ratten beobachtet, daß die GSH-Peroxidase der Lunge durch Ozon-Exposition der Tiere (36) und das Leberenzym durch alimentär verabreichte Fettsäurehydroperoxide (37) – also durch Akzeptorsubstrat – induziert werden kann.

Die vorliegenden Daten zeigen weiterhin, daß beim Menschen die Aktivitäten beider GSH-Peroxidasen negativ miteinander korrelieren ($r = -0,71 \pm 0,18$), also auch beim Menschen eine wechselseitige Kompensation beider Enzymaktivitäten vorliegen könnte. Man könnte dies als Hinweis für eine suboptimale Selenversorgung beim Menschen auffassen. Dies müßte ein generalisierter latenter Selenmangel sein: auch die erythrocytäre GSH-Peroxidase, die bisher als verlässlicher Indikator des Selenstatus gilt, liegt beim Menschen um den Faktor 5 niedriger als bei der Ratte (38).

Lipidperoxidspiegel und Superoxiddismutase korrelieren negativ mit $r = -0,47 \pm 0,31$. Obwohl bisher nur in-vitro-Befunde vorliegen, wurde häufig postuliert, daß die Superoxiddismutase den primären Schutz der Zelle vor reaktiven Sauerstoffradikalen und damit vor Zellmembranschädigung via Lipidperoxidation darstellt (18, 39). Der vorliegende Befund stützt diese Ansicht nachhaltig im Falle der menschlichen Leber.

Danksagung

Herrn Dozent Dr. A. Wendel danke ich für die intensive Betreuung meiner Arbeit.

Den Herren Professoren Dres. D. Kummer, J. Durst und G. Kieninger, Chirurgische Klinik (Direktor: Prof. Dr. L. Koslowski) der Universität Tübingen, danke ich für die Überlassung des biologischen Materials. Frl. Dipl.-Biochem. S. Feuerstein sei für ihre Kooperativität und Frl. M. Fausel für ihre technische Hilfe herzlich gedankt.

Literatur

- Flohé, L. (1970), *Klin. Wochenschr.* 49, 669–683.
- Ganther, H. E., Hafeman, D. G., Lawrence, R. A., Serfass, R. E. & Hoekstra, W. G. (1976) in: *Trace Elements in Human Health and Disease 2* (Prasad, A. S. ed) pp. 165–234, Acad. Press, New York.
- Flohé, L. & Schlegel, W. (1971), *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 352, 1401–1410.
- Christophersen, B. O. (1969), *Biochim. Biophys. Acta* 176, 463–470.
- Lawrence, R. A. & Burk, R. F. (1976), *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 71, 952–958.
- Prohaska, J. R. & Ganther, H. E. (1977), *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 76, 437–445.
- Habig, W. H., Pabst, M. Y., Fleischner, G., Gatmaitan, Z., Arias, I. M. & Jakoby, W. B. (1974), *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 71, 3879–3882.
- Chasseaud, L. F. (1973), *Drug Metab. Rev.* 2, 185–220.
- Habig, W. H., Pabst, M. J. & Jakoby, W. B. (1974), *J. Biol. Chem.* 249, 7130–7139.
- Mitchell, J. R., Jollow, D. J., Potter, W. Z., Gillette, J. R. & Brodie, B. B. (1973), *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 187, 211–217.
- Hildebrandt, A. G., Speck, M. & Roots, I. (1973), *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 54, 968–975.
- Nordblom, G. D. & Coon, M. J. (1977), *Arch. Biochem. Biophys.* 180, 343–347.
- Richter, C., Azzi, A., Weser, U. & Wendel, A. (1977), *J. Biol. Chem.* 252, 5061–5066.
- Mitchell, J. R., Thorpeirsson, S. S., Potter, W. Z., Jollow, D. J. & Kaiser, M. (1974), *Clin. Pharmacol. Ther.* 16, 676–684.
- Wendel, A., Feuerstein, S. & Konz, K.-H. (1978), in: *"Functions of Glutathione in Liver and Kidney"* (Sies, H. & Wendel, A. eds), 183–188, Springer-Verlag, Heidelberg/New York.
- Di Luzio, N. R. & Hartman, A. D. (1969), *Exp. Mol. Pathol.* 11, 38–52.
- Köster, U., Albrecht, D. & Kappus, H. (1977), *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 41, 639–648.
- Fridovich, I. (1975), *Annu. Rep. Med. Chem.* 10, 257–264.
- McCord, J. M. & Fridovich, I. (1969), *J. Biol. Chem.* 244, 6049–6055.
- Weser, U., Paschen, W. & Younes, M. (1975), *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 66, 769–777.
- Günzler, W. W., Kremers, H. & Flohé, L. (1974), *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.* 12, 444–448.
- Flohé, L., Loschen, G., Günzler, W. A. & Eichele, E. (1972), *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 353, 987–999.
- Günzler, W. A., Vergin, H., Müller, I. & Flohé, L. (1972), *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 353, 1001–1004.
- Misra, H. P. & Fridovich, I. (1977), *Anal. Biochem.* 79, 553–560.
- Hübl, P. & Bretschneider, R. (1964), *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 335, 146–155.
- Heath, R. L. & Packer, L. (1965), *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 19, 716–720.
- Brehe, J. E. & Burch, H. (1976), *Anal. Biochem.* 74, 189–197.
- Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Lewis, F. & Randall, R. J. (1951), *J. Biol. Chem.* 193, 265–275.
- Sies, H., *Angew. Chemie* 86, 789–801.

Bestimmung von Antiepileptika mit Merckotest®

Primat-aed®

Primat® = eingetragenes Warenzeichen der Firma Syva, Palo Alto, USA
aed = antiepileptic drug



Die Bestimmung des Antiepileptikaspiegels erlaubt eine individuelle medikamentöse Behandlung der Epilepsie, da die Therapie mit den tatsächlich vorhandenen Konzentrationen gesteuert wird.

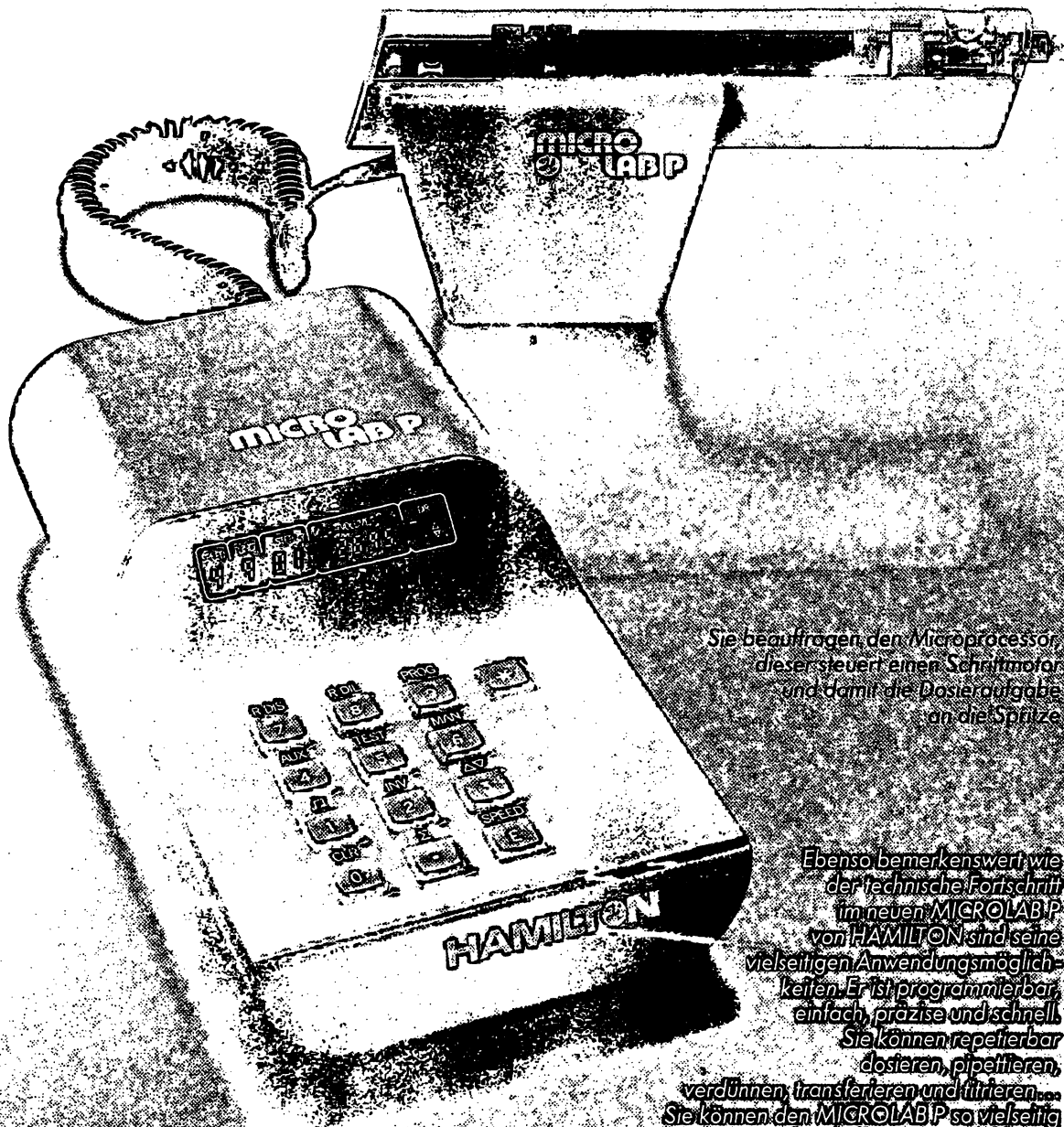
Aufgrund verschiedener Vorteile wird der homogene Enzym-Immuno-Assay für die rasche und präzise quantitative Analyse von Carbamazepin, Ethosuximid, Phenobarbital, Phenytoin, Primidon, als die Methode der Wahl bezeichnet.

Bitte fordern Sie ausführliche Unterlagen an.

E. Merck · Frankfurter Straße 250 · D-6100 Darmstadt 1

Diagnostica MERCK

Der Schrittmacher



Sie beauftragen den Microprocessor, dieser steuert einen Schrittmotor und damit die Dosieraufgabe an die Spritze

Ebenso bemerkenswert wie der technische Fortschritt im neuen MICROLAB P von HAMILTON sind seine vielseitigen Anwendungsmöglichkeiten. Er ist programmierbar, einfach, präzise und schnell. Sie können repetierbar dosieren, pipettieren, verdünnen, transferieren und filtrieren...

Sie können den MICROLAB P so vielseitig einsetzen, dass Sie umgehend all seine Möglichkeiten genau kennenlernen sollten!

Verlangen Sie unseren ausführlichen Prospekt oder eine Demonstration in Ihrem Labor. Bei Hamilton Bonaduz AG, CH-7402 Bonaduz, Schweiz oder direkt bei unserer Niederlassung in Deutschland.

HAMILTON

HAMILTON DEUTSCHLAND GMBH

D-6100 Darmstadt, Postfach 110427, Otto-Röhm-Str. 74, Tel. (06151) 85085/86, Telex 419684

30. Higashi, T., Tateishi, N., Naruse, A. & Sakamoto, Y. (1977), *J. Biochem.* **82**, 117–124.
31. Lawrence, R. A. & Burk, R. F. (1976), *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **71**, 952–958.
32. Feuerstein, S. & Wendel, A. (1979), unveröffentlicht.
33. Lawrence, R. A. & Burk, R. F. (1978), *J. Nutr.* **108**, 211–215.
34. Beckman, G., Lundgren, E. & Tärnvik, A. (1973), *Human Heredity* **23**, 338–345.
35. Plaa, G. L. & Witschi, H. (1976), *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **16**, 125–141.
36. Chow, C. K. & Tappel, A. L. (1972), *Lipids* **7**, 518–524.
37. Reddy, K. & Tappel, A. L. (1974), *J. Nutr.* **104**, 1069–1078.
38. Mills, G. C. (1960), *Arch. Biochem. Biophys.* **86**, 1–5.
39. Halliwell, B. (1974), *New Phytol.* **73**, 1068–1075.

Doz. Dr. A. Wendel
Physiologisch-Chemisches Institut
Hoppe-Seyler-Str. 1
D-7400 Tübingen

